

# Le sommeil interrompu de la Belle au Bois Dormant

Les transposons, ou éléments transposables, ont été décrits dans de nombreuses espèces allant du poisson à l'homme en passant par la mouche. Une enzyme, la transposase, catalyse l'excision du transposon de sa position initiale et, par un mécanisme de « couper/coller », permet sa réintégration ailleurs dans le génome. On distingue les éléments autonomes, exprimant une transposase active, et donc capables de s'auto-transposer et les éléments non autonomes qui ont perdu cette capacité mais ont gardé le plus souvent les séquences d'ADN en *cis* nécessaires à la transposition. Au cours de l'évolution phylogénétique, la proportion des éléments autonomes dans les génomes eucaryotes a considérablement diminué en raison d'une accumulation de mutations rendant ces transposases inactives, ce processus est appelé inactivation verticale. Si la plupart des éléments transposables observés chez les animaux ont une spécificité d'espèce stricte rendant la possibilité d'un transfert horizontal entre différentes espèces peu probable, les membres de la super-famille des éléments transposables *Tc1/mariner* semblent en revanche largement répandus dans de nombreuses espèces [1]. Il y a quelques années, un groupe américano-hongrois avait étudié les modifications apportées par l'évolution phylogénétique dans cette famille de gènes et reconstitué artificiellement un élément transposable actif à la fois chez le poisson et chez les mammifères. Ce réveil brutal, après un long sommeil évolutif, aurait pu valoir à cet élément transposable synthétique le nom de Frankenstein, mais les auteurs lui ont préféré celui, plus romantique, de Belle au Bois Dormant ou *Sleeping Beauty* [2]. Il est composé de terminaisons répétées inversées, séquences cibles de la transposase, flanquant un gène

codant pour une transposase reconstituée, capable d'insérer des fragments d'ADN dans le génome de lignées cellulaires de mammifères (figure 1). *Sleeping beauty* devenait ainsi un outil potentiellement utile pour les technologies de transfert de gène.

Les vecteurs de transfert de gènes *in vivo* actuellement les plus utilisés sont en effet essentiellement représentés par les vecteurs viraux [3]. Une alternative, dépourvue des effets secondaires des virus, est l'utilisation d'ADN nu, qui reste cependant moins efficace. Une approche permettant de s'affranchir de l'utilisation de ces vecteurs viraux, tout en conservant une efficacité de transfert de gènes équivalente, serait par conséquent promise à un grand ave-

nir... L'équipe de M. Kay (Stanford, CA, USA) qui, depuis quelques années, décline l'utilisation de l'ensemble des vecteurs intégratifs existants, dans le but de transférer des gènes dans le foie (*adeno-associated-virus*, oncorétrovirus, lentivirus) a donc testé la capacité de *Sleeping Beauty* à faciliter l'intégration d'ADN nu dans des hépatocytes, directement *in vivo* [4]. Après avoir confirmé l'efficacité *ex vivo* de la transposition dans des cellules humaines, les auteurs ont co-injecté par voie intraveineuse à des souris immunodéprimées un plasmide portant les terminaisons inversées répétées et exprimant la  $\beta$ -galactosidase, et un plasmide codant la transposase de la Belle au Bois Dormant soit active, soit mutée. Le foie est le principal

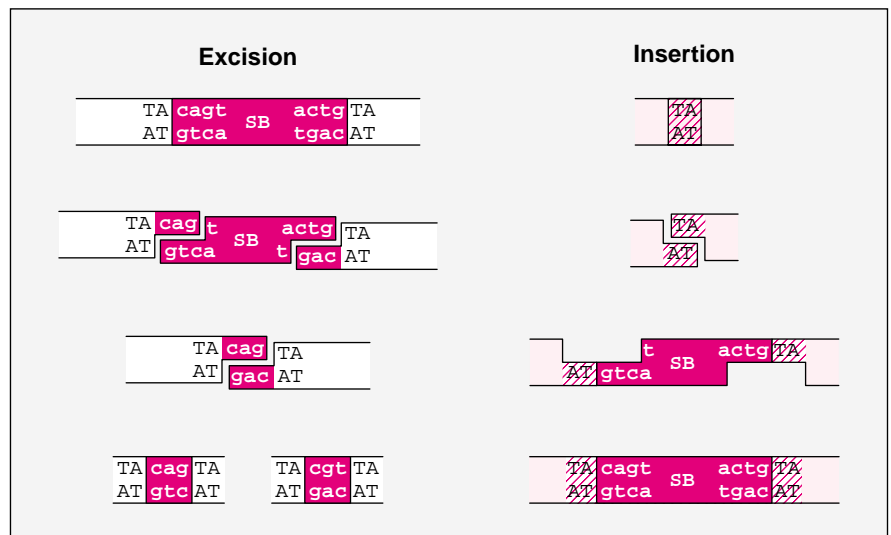


Figure 1. **Transposition de Sleeping Beauty.** Les différentes étapes de la transposition de Sleeping beauty sont décrites à gauche pour l'excision, et à droite pour l'insertion. La transposase coupe les deux extrémités du transposon au niveau des séquences inversées répétées du site d'excision, créant ainsi des extrémités 5' sortantes de trois bases. Elle clive également le site d'insertion au niveau d'une séquence dinucléotidique TA, mais, dans ce cas, les extrémités sont 3' sortantes. L'élément excisé est alors transféré du site d'excision vers le site d'insertion où il s'intègre à nouveau dans le génome. La dernière étape est la réparation de l'ADN au niveau des deux sites.

organe ciblé par cette approche. Environ 5 % des hépatocytes expriment la  $\beta$ -galactosidase 4 semaines après l'injection d'une transposase active alors que moins de 0,02 % des hépatocytes sont marqués après injection de la transposase mutée. Cette efficacité de transfert de gènes est comparable à celle qui est obtenue, par exemple, après injection d'un AAV, et l'expression du transgène est stable pendant plus de 6 mois. Ces résultats ont été reproduits à long terme sur des souris immunocompétentes en utilisant des plasmides exprimant l' $\alpha$ 1-antitrypsine ou le facteur IX, les taux circulants de

ces deux composés étant augmentés respectivement d'un facteur 40 et 80. En utilisant le plasmide exprimant le facteur IX, les auteurs ont démontré l'efficacité thérapeutique de cette approche chez des souris présentant une hémophilie B ainsi que la possibilité de réitérer le traitement. Ainsi, le réveil de la belle au bois dormant de son trop long sommeil permettra-t-il d'entrevoir de nouvelles possibilités thérapeutiques...

1. Plasterk RH, Izsvak Z, Ivics Z. Resident aliens, the Tc1/mariner superfamily of transposable elements. *Trends Genet* 1999 ;15 : 326-32.

2. Ivics Z, Hackett PB, Plasterk RH, Izsvak Z. Molecular reconstruction of Sleeping Beauty, a Tc1-like retrotransposon from fish, and its transposition in human cells. *Cell* 1997 ; 91 : 501-10.

3. Olivier Danos. Vectorologie : orientations et progrès récents. *Med Sci* 1999 ; 15 : 663-7.

4. Yant SR, Meuse L, Chiu W, Ivics A, Izsvak Z, Kay MA. Somatic integration and long-term transgene expression in normal and haemophilic mice using a DNA transposon system. *Nat Genet* 2000 ; 25 : 35-41.

### Hélène Gilgenkrantz

Inserm U. 129, CHU Cochin, 24, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75674 Paris Cedex 14, France.

LYON  
COBIP